

X. Méndez¹
A. Pijoan²
E. Chimenos³
J. López⁴

Pruebas inmunohistoquímicas

- 1 Odontóloga, Diploma de Medicina Bucal
2 Odontólogo, Profesor Asociado de Odontología Integrada de Adultos
3 Médico estomatólogo, Profesor titular y director del Diploma de Medicina Bucal
4 Médico estomatólogo, Profesor titular y codirector del Diploma de Medicina Bucal
Facultad de Odontología
Universidad de Barcelona

Correspondencia

Dr. Eduardo Chimenos Küstner
Via Augusta 124, 1º 3ª
08006 Barcelona

RESUMEN

Se describen las pruebas inmunohistoquímicas de uso más común, como son la inmunofluorescencia directa e indirecta. Son muy utilizadas para la detección de antígenos y anticuerpos en ciertas enfermedades de carácter autoinmunitario. Se indican también sus principales aplicaciones en Odontología.

PALABRAS CLAVE

Inmunohistoquímica; Inmunofluorescencia directa; Inmunofluorescencia indirecta.

ABSTRACT

The authors describe the immunohistochemistry trials of most common use: direct and indirect immunofluorescence. They are overall used to detect antigens and antibodies in some diseases of autoimmune origin. Their main applications in dentistry are also indicated.

KEY WORDS

Immunohistochemistry; Direct immunofluorescence; Indirect immunofluorescence.

466 INTRODUCCIÓN

Las técnicas inmunohistoquímicas se pueden usar para identificar tanto antígenos como anticuerpos en suspensiones celulares o en cortes de tejido. Los antígenos pueden ser propios de las células examinadas o corresponder a microorganismos localizados dentro o en la superficie de las células. Estas técnicas inmunohistoquímicas también se utilizan para demostrar y localizar el depósito de complejos antígeno-anticuerpo en las lesiones de diversos órganos que se producen en diversas enfermedades⁽¹⁾.

En 1941 Coons, utilizando anticuerpos marcados con fluoresceína, consiguió la detección de antígenos en los tejidos e inició una técnica denominada inmunofluorescencia, que se ha desarrollado de forma marcada en los últimos años⁽²⁾.

La inmunofluorescencia se basa en la utilización de un anticuerpo específico, que se conjuga con compuestos fluorescentes, como los fluorocromos, sin que se altere su reactividad inmunitaria. Como resultado aparece un trazador sensible para antígenos de tejido. El anticuerpo conjugado se añade a las células o tejidos y se fija a los antígenos, para formar así un complejo inmunitario estable. El anticuerpo no enlazado se elimina por lavado y la preparación resultante se observa en un microscopio de fluorescencia⁽³⁾.

Estas técnicas son bastante laboriosas, pero presentan ventajas cuando se pretende obtener una medición cuantitativa de la concentración de anticuerpos⁽⁴⁾. Un fluorocromo es una sustancia que, sometida a una fuente luminosa, absorbe luz de cierta longitud de onda y emite otra con una longitud de onda superior⁽²⁾.

OBJETIVOS DE LAS TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

La inmunofluorescencia se puede aplicar como una técnica histoquímica o citoquímica, con el fin de detectar y localizar antígenos en células o tejidos⁽³⁾, así como en la detección de complejos inmunitarios en las lesiones que acompañan a muchas enfermedades, tanto

autoinmunes como infecciones⁽¹⁾. Clínicamente se pueden prestar a confusión, pero presentan patrones de inmunofluorescencia diferentes⁽⁵⁾.

MÉTODOS DE TINCIÓN

Los dos colorantes de fluoresceína más comúnmente utilizados son el isotiocianato de fluoresceína (fluoresceína) y el isotiocianato de tetrametilrodamina (rodamina). Estas moléculas poseen longitudes de onda de excitación y emisión características. La fluoresceína tiene un máximo de excitación de 490-495 nm y un máximo de emisión de 517 nm; la fluoresceína emite un color amarillo verdoso. La rodamina se excita al máximo a 550 nm y emite su color anaranjado rojizo a 580 nm⁽⁶⁾.

La observación se realiza en un microscopio de fluorescencia equipado con:

- Una lámpara de vapor de mercurio, fuente de rayos UV (ultravioleta).
- Un filtro excitador, situado antes del objeto, que permite pasar los UV y detiene los rayos visibles.
- Un filtro de detención, entre el ocular y el objetivo, que detiene los rayos UV y permite el paso de la luz fluorescente emitida⁽²⁾.

INMUNOFLOURESCENCIA DIRECTA (IFD)

Se emplea para demostrar antígenos de microorganismos presentes en células o en productos patológicos (Tabla 1).

En un portaobjetos se fija la muestra problema y se añaden los anticuerpos específicos marcados con un fluorocromo, tras la incubación, y el lavado se observa con el microscopio de fluorescencia. Si están presentes los antígenos en la muestra se produce la unión Ag-Ac marcado y todo el complejo se hace fluorescente; si por el contrario no lo están, los Ac marcados se eliminan con el lavado⁽⁷⁾. Un ejemplo es el caso del penfigoide, en que utilizando la fracción C3 del complemento conjugada con fluoresceína se pone de mani-

Tabla 1 Resultados de la inmunofluorescencia directa en algunos procesos de la mucosa bucal

<i>Enfermedad</i>	<i>Lugar de depósito</i>	<i>Patrón</i>	<i>Depósito</i>
Pénfigo	Intraepitelial	Pericelular	IgG, C1, C3
Liquen plano	Membrana basal	Lineal	IgG, IgM, C3
Penfigoide	Membrana basal	Lineal	IgG, C1, C3
Dematitis herpetiforme	Membrana basal	Granular	IgA, C3
Enfermedad de la IgA lineal	Membrana basal	Lineal	IgA, C3
Lupus eritematoso	Membrana basal	Granular	IgG, IgM, IgA, C1, C3

fiesto la presencia de inmunoglobulinas a lo largo de la membrana basal.

La IFD está limitada en su aplicación por la necesidad de disponer de un anticuerpo específico marcado; es decir, se precisan tantos Ac marcados como Ag se quieran detectar. Sin embargo es un método simple, rápido de realizar, con pocas reacciones inespecíficas⁽⁸⁾.

INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA (IFI) O TÉCNICA DE DOBLE CAPA

Se utiliza para detectar y titular Ac circulantes en suero.

En un portaobjetos se fija el Ag específico para los anticuerpos que se desea investigar; en una segunda fase se incorpora el suero problema y tras incubación y lavado se añade una anti-Ig marcada con un fluorocromo, que sólo se fijará si ya existe el inmuno-complejo; en caso contrario, se elimina con el último lavado. De esta forma se observa fluorescencia cuando en el suero problema hay anticuerpos⁽⁷⁾.

Esta técnica tiene varias ventajas: primero, la fluorescencia es más brillante que en la técnica directa, debido a que varias anti-inmunoglobulinas se unen a cada una de las moléculas de anticuerpo presentes en la primera capa; segundo, se ahorra tiempo cuando se estudian varios sueros para la determinación de anticuerpo, ya que sólo es necesario preparar un único reactivo marcado, la anti-inmunoglobulina.

Por otra parte, el método presenta gran flexibilidad. Por ejemplo, al emplear cadenas pesadas de las Ig indi-

viduales, puede determinarse la distribución de Ac entre las varias clases y subclases, al menos en forma semicuantitativa.

También puede obtenerse una mayor sensibilidad si se utiliza una tercera capa; sin embargo, como sucede en la mayor parte de las técnicas inmunológicas, a medida que se incrementa la sensibilidad se reduce la especificidad⁽⁹⁾.

Por ejemplo, mediante IFI es posible detectar anticuerpos contra *A. actinomycetemcomitans* de pacientes con periodontitis juvenil localizada⁽⁵⁾.

APLICACIONES EN ODONTOESTOMATOLOGÍA DE LAS PRUEBAS DE INMUNOFLUORESCENCIA

Las pruebas de inmunofluorescencia, junto con el estudio histopatológico, son las técnicas más utilizadas para el diagnóstico de enfermedades víricas y de patogenia inmunitaria, que cursan con ampollas (Tabla 2). La técnica de inmunofluorescencia directa permite la determinación de anticuerpos unidos a los tejidos; para ello se requiere una muestra de tejido afectado y de tejido perilesional no afectado. La inmunofluorescencia indirecta permite probar la presencia de anticuerpos circulantes en sangre.

ENFERMEDADES AMPOLLARES

Un gran número de enfermedades cutaneomucosas son de naturaleza autoinmunitaria y se caracterizan por la presencia de ampollas cutáneas. Los anticuer-

Tabla 2 Enfermedades a tener en consideración en inmunohistoquímica

Enfermedades ampollares

Penfigoide ampollar
Penfigoide cicatricial
Penfigoide gestacional («herpes gestacional»)
Epidermólisis ampollar adquirida
Dermatitis herpetiforme
Penfigoide paraneoplásico
Pénfigo vulgar y foliáceo

Enfermedades vesiculoampollares virales (de la familia Herpesviridae)

Virus Herpes simple I y II
Virus varicela zoster (HV3)
Virus de Epstein Barr (HV4)
Citomegalovirus (HV5)

pos que se encuentran en las enfermedades inmunitarias se enlazan a estructuras específicas dentro de la piel.

Su diagnóstico requiere analizar su presentación clínica, morfología, distribución de las lesiones y métodos de laboratorio).

Entre las técnicas diagnósticas utilizadas se encuentran el estudio anatomopatológico y las pruebas de inmunofluorescencia directa e indirecta. Las biopsias deben realizarse tomando muestras de tejido de lesiones iniciales, que incluyan tejido inflamado o vesículas y tejido sano perilesional. Deben evitarse las erosiones, porque la pérdida de tejido epitelial dificulta o incluso impide el diagnóstico de laboratorio⁽³⁾.

En los pénfigos, las ampollas son intraepiteliales, mientras que en los penfigoides, la ampolla es subepitelial. Las alteraciones vesiculares y ampollares intraepiteliales y subepiteliales son el resultado de la acción directa de los anticuerpos en los distintos componentes hemidesmosómicos y de la membrana basal⁽¹⁰⁾.

La inmunofluorescencia directa permite la determinación de anticuerpos enlazados al tejido epitelial tegumentario, mientras que la inmunofluorescencia indirecta busca anticuerpos circulantes dirigidos contra moléculas que se encuentran en los tegumentos.

PENFIGOIDE AMPOLLAR O BULLOSO

Se caracteriza por cursar con ampollas a tensión con diámetro de un centímetro, a menudo pruriginosas, localizadas mayoritariamente en la piel de las superficies flexoras de extremidades, axilas, ingles y abdomen inferior⁽³⁾. En una tercera parte de los sujetos afectados se pueden encontrar ampollas en la boca. El penfigoide buloso es una enfermedad poco frecuente, pero no rara. Aunque en algunas ocasiones se ha identificado en niños, en principio es una enfermedad mayoritariamente de adultos de 60 años o más. En una ampolla reciente se aprecia una bula subepidérmica, con infiltrado inflamatorio abundante de eosinófilos. La epidermis está intacta y no necrótica.

El diagnóstico inmunitario mediante estudios de inmunofluorescencia directa revela depósitos lineales de IgG en la zona de la membrana basal.

PENFIGOIDE CICATRICIAL O CICATRIZAL

Es una enfermedad ampollar subepidérmica crónica que afecta principalmente las superficies mucosas. La mucosa oral y la membrana de los ojos son su localización preferente y en orden decreciente de frecuencia afecta las mucosas nasofaríngea, laríngea, órganos genitales y esófago⁽³⁾. Ocasionalmente pueden aparecer lesiones epiteliales. Las lesiones orales son las más frecuentes; por esa razón el dentista tiene la oportunidad de hacer el diagnóstico inicial en una etapa temprana⁽¹¹⁾. Esta enfermedad suele afectar la mucosa en adultos, pero en alguna ocasión se ha descrito el penfigoide cicatricial en niños; en aquellas circunstancias la lesión oral fue la lesión inicial⁽¹²⁾. El diagnóstico de penfigoide cicatricial se basa en tres criterios: ampollas o erosiones mucosas cicatriciales, ampollas subepiteliales con células basales intactas e infiltrado variable de células inflamatorias e inmunofluorescencia directa.

El penfigoide cicatricial es más frecuente en la boca que el penfigoide buloso. Las lesiones orales suelen preceder las lesiones en conjuntiva. Es importante su

detección ya que la cicatrización de las lesiones en los ojos suele producir sinequias, al unirse los párpados, y producir ceguera.

La lesión característica es la cicatrización secundaria a las ampollas. En ocasiones la lesión cicatricial puede causar retracción de los tejidos anexos. Existe un depósito lineal de IgG y C3 en la unión submucosa-epitelial. Estudios recientes indican que el penfigoide cicatricial podría subdividirse en dos entidades, según su presentación oral y ocular, porque se ha observado que los anticuerpos en estas dos localizaciones interactúan con distintas moléculas de la membrana basal⁽¹³⁾.

HERPES GESTACIONAL (PENFIGOIDE GESTACIONAL)

Se caracteriza por la aparición de vesículas muy pruriginosas durante el embarazo⁽³⁾.

A pesar del nombre, no tiene relación con el virus del herpes simple y su etiología es desconocida¹⁴. No se conoce el estímulo primario para la producción de anticuerpos, pero el antígeno es la misma proteína hemidesmosómica de la membrana basal epidérmica que constituye uno de los antígenos blanco del penfigoide bulloso. Es infrecuente y generalmente se inicia al segundo o tercer trimestre del embarazo. Tiene a recidivar con los partos siguientes y dura semanas hasta meses después del parto; en ocasiones aparece con la ovulación, menstruación o el uso de anticonceptivos. Las lesiones curan sin dejar cicatrices, excepto por infección bacteriana secundaria.

En la biopsia de piel de una vesícula la inmunofluorescencia revela C3 y en un 25% de los pacientes se observa IgG.

EPIDERMÓLISIS AMPOLLAR O BULLOSA ADQUIRIDA

La epidermólisis bullosa adquirida es una enfermedad ampollar que se caracteriza por fragilidad cutá-

nea⁽³⁾. Se presenta en la piel no inflamada a lo largo de los miembros distales y cura dejando cicatriz.

Aunque se desconoce el estímulo, se ha reconocido el antígeno de esta enfermedad: se trata de la porción globular carboxilterminal de la procolágena tipo VII. Los agregados de colágena tipo VII forman fibrillas de anclaje que unen la epidermis y dermis.

Tiene un gran predominio de neutrófilos en el infiltrado inflamatorio y se detecta una banda lineal de IgG y C3.

La presentación clínica e histológica es similar al penfigoide bulloso, pero la microscopía electrónica, la inmunofluorescencia directa y la mala respuesta al tratamiento de la epidermólisis nos ayuda al diagnóstico⁽³⁾.

DERMATITIS HERPETIFORME

La dermatitis herpetiforme se caracteriza por pápulas agrupadas, vesículas pruriginosas y por el depósito granular de IgA en las papilas dérmicas en la unión dermoepidérmica⁽³⁾.

Aún se desconoce el estímulo para la producción de anticuerpos IgA que se encuentran en la piel, pero se ha observado en los individuos afectados una sensibilidad al gluten en la dieta. Se considera que el estímulo primario para la enfermedad se presenta en el aparato digestivo, aunque el anticuerpo no reacciona con gluten.

La eliminación del gluten en la dieta puede controlar la enfermedad después de 1 a 4 años, aunque seguir esta dieta es difícil.

Las pápulas rojas agrupadas, placas en forma de panal y vesículas, se distribuyen de manera simétrica en los codos y rodilla, parte superior de la espalda, nalgas, parte superior del cuello y cuero cabelludo. Esta distribución puede ser de gran ayuda para el diagnóstico⁽³⁾.

PÉNFIGOS VULGAR Y FOLIÁCEO

Los pénfigos vulgar y foliáceo se describen juntos debido a que son enfermedades con ampollas, que se

470 caracterizan por acantólisis (pérdida de cohesión) y depósito de anticuerpos IgG sobre la superficie del epitelio escamoso⁽³⁾. En la clínica encontramos ampollas suprabasales difusas y denudación de piel y mucosas.

Mientras la lesión es más superficial en el pénfigo foliáceo, debido a la afectación de la capa granular, en el pénfigo vulgar la lesión es más profunda porque se afectan la suprabasal o la espinosa. Ciertos anticuerpos del pénfigo son patógenos para los tejidos propios del paciente; estos se enlazan con moléculas de unión de adhesión celular (interfieren con el ensamblaje celular). Estudios recientes han conseguido caracterizar las moléculas de la superficie de los queratocitos en las que se unen los anticuerpos del pénfigo. Estos trabajos han demostrado que los pacientes con pénfigo vulgar presentan anticuerpos circulantes dirigidos contra la cadherina 130-kd, y que los pacientes con pénfigo foliáceo presentan anticuerpos circulantes contra la proteína desmosómica 160-kd. La función de ambas proteínas 130-kd i 160-kd es la unión con otras moléculas, al interferir-se su función se formaran las ampollas características⁽¹⁴⁾.

El pénfigo vulgar se caracteriza por ampollas, que con mayor frecuencia afectan cuero cabelludo, tórax, ombligo y pliegues cutáneos. Las lesiones se pueden romper con facilidad, y en algunos casos sólo se aprecian costras y no ampollas. Las lesiones bucales pueden constituir desde el principio, o con menor frecuencia, la única presentación de la enfermedad. El signo de Nikolsky (separación de la escama epidérmica después de ejercer presión lateral) es positivo en la piel dañada del cuero cabelludo y de las axilas.

Las lesiones del pénfigo foliáceo son más superficiales; por eso suele mostrar erosiones superficiales, escamosas, con costras y sin ampollas francas. Es infrecuente observar lesiones bucales en el pénfigo foliáceo⁽³⁾.

En la inmunofluorescencia se observa una imagen reticular que son componentes del complemento, principalmente C3 e IgG.

PÉNFIGO (PENFIGOIDE) PARANEOPLÁSICO

Es una enfermedad autoinmunitaria que tiene características que recuerdan al pénfigo vulgar (acantólisis suprabasal) y al eritema multiforme (necrosis basal de queratinocitos e infiltrado linfocitario)⁽³⁾. Las personas con esta enfermedad tienen una malignidad subyacente que suele ser de origen linforreticular o pulmonar.

La enfermedad se caracteriza por ampollas y erosiones oculares y bucales junto con lesiones cutáneas generalizadas las cuales pueden semejar necrólisis epidérmica tóxica, liquen plano, penfigoide bulloso o eritema multiforme. El pénfigo paraneoplásico es rápidamente progresivo y produce la muerte en la mayoría de individuos que tiene neoplasia concomitante. Aunque la etiología de esta enfermedad mucocutánea grave es poco comprendida, se considera que puede ser el resultado de la combinación de una respuesta inmunitaria celular y humoral a antígenos tumorales, los cuales tienen cierto grado de reactividad superpuesta con componentes normales de la piel y otros epitelios.

En algunos casos la aparición del pénfigo paraneoplásico puede ser el indicador inicial de una neoplasia concomitante⁽³⁾; por esta razón, si se sospecha diagnóstico de pénfigo paraneoplásico, está justificada la búsqueda de una neoplasia oculta. Esto incluye extensas investigaciones diagnósticas y de laboratorio, ya que es posible que estos individuos tengan tumores de difícil diagnóstico.

Los estudios de inmunofluorescencia muestran la presencia de anticuerpos IgG circulantes y unidos a tejidos, los cuales se enlazan a la superficie celular del epitelio escamoso, de acuerdo a un patrón indistinguible de los anticuerpos del pénfigo.

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Existen algunos aspectos que justifican un apartado de diagnóstico diferencial, entre las distintas entidades nosológicas comentadas⁽¹⁵⁻¹⁹⁾.

Así, el diagnóstico diferencial del **penfigoide bulloso**⁽³⁾ incluye diversas enfermedades caracterizadas por la aparición de ampollas como:

- Ampollas subepidérmicas que se producen más en ancianos.
- Herpes gestacional, donde se observan ampollas en jóvenes embarazadas o que toman anticonceptivos.
- Erupción bullosa por fármacos; presentan estudios de inmunofluorescencia negativos.
- Eritema multiforme bulloso, presenta lesiones en ojo de buey (ampolla central), e inmunofluorescencia negativa.
- El penfigoide cicatricial, dermatitis herpetiforme, pénfigo vulgar y epidermólisis bullosa adquirida; se distinguen del pénfigo bulloso en base a los datos clínicos y del laboratorio.
- Epidermólisis bullosa adquirida; los antecedentes familiares y las pruebas de inmunofluorescencia ayudan a descartar los tipos hereditarios de epidermólisis adquirida. Las lesiones inflamatorias semejan penfigoide bulosos, pero con predominio de neutrófilos. El tratamiento de esta enfermedad es más difícil que el penfigoide bulloso, ya que los sujetos responden mal a la terapéutica tópica y sistémica con corticoides.

El diagnóstico diferencial del **penfigoide cicatricial**⁽³⁾:

- Incluye la gingivitis descamativa; en los casos de penfigoide cicatricial la encía aparece sangrante, dolorosa y eritematosa, las ampollas se rompen en horas y se convierten en úlceras; también se podría presentar junto a una conjuntivitis y a la aparición de vesículas y lesiones erosivas en la piel^(15, 18).

El diagnóstico diferencial de **dermatitis herpetiforme**⁽³⁾:

- Se podría confundir con varicela, herpes simple y zóster, pero en estas enfermedades las lesiones presentan una distribución no agrupada y asimétrica, aunque también se puede requerir un frotis o un cultivo para su diferenciación.

El diagnóstico diferencial del **pénfigo vulgar y foliáceo**⁽³⁾:

- Las lesiones bucales se pueden confundir con úlceras aftosas o eritema multiforme.
- También se puede confundir con dermatitis difusa o impétigo, aunque el estudio de una biopsia permitirá su diferenciación.

471

HERPESVIRUS

Los herpesvirus son virus ADN, envueltos, que se replican sobre todo en el núcleo de la célula que parasitan; producen típicas acumulaciones de viriones que denominadas inclusiones intranucleares⁽⁷⁾. Todos ellos se caracterizan por permanecer en estado de latencia incluido en el ADN de la célula huésped en forma de provirus después de la primoinfección. Pueden reactivarse y volver a producir patología en distintos momentos a lo largo de la vida del individuo infectado. En general, producen cuadros asintomáticos o de naturaleza benigna, ocasionalmente son causa de patología grave en personas inmunocompetentes. Los principales herpesvirus patógenos humanos a considerar en este apartado son los siguientes⁽⁷⁾: virus herpes simple 1 y 2 (VHS), varicela-zóster (VH3), virus de Epstein-Barr (VH4) y citomegalovirus (VH5).

HERPES SIMPLE

El herpes simple es la expresión clínica en piel o mucosas de la infección por el virus de herpes tipo 1 y 2; también puede producir patología en otros órganos internos⁽⁷⁾. Produce una infección recurrente, ocasionada por la reactivación de virus latentes en células nerviosas.

En general, la primoinfección suele ser asintomática. Puede afectar la mucosa oral, los labios y las encías (gingivostomatitis), en el caso de VHS 1, o la mucosa genital en la infección VHS 2.

El diagnóstico es fundamentalmente clínico en las formas localizadas. En cuadros graves o con sintomatología polimorfa, la certeza diagnóstica se obtiene por demostración del virus a partir de muestras clínicas. Es

72 útil realizar una prueba de Tzanck, escarificación y tinción de Giemsa para visualizar corpúsculos de inclusión, que serán diagnosticados de infección por herpes.

Las muestras para diagnóstico por cultivo del virus deben tomarse lo antes posible en el curso de la infección. Si existen vesículas, se les extraerá líquido con jeringuilla de insulina, así como escarificado con escombillo del fondo de la lesión, los cuales se colocarán en medio de transporte de virus⁽⁷⁾.

VIRUS VARICELA-ZÓSTER (VIRUS HERPES HUMANO 3)

Aunque no se sabe con exactitud, se cree que la puerta de entrada del virus varicela-zóster es la mucosa del aparato respiratorio, donde éste se multiplica⁽⁷⁾. A continuación, se produce la viremia, que permite la diseminación del virus a todo el organismo y su llegada a la piel, donde produce la lesión vesicular característica. Desde la lesión vesicular a través de los axones nerviosos, el virus alcanza el ganglio nervioso sensorial de la zona, donde permanece en estado de latencia. El estado de latencia parece depender más de la inmunidad del hospedador que de la capacidad del virus para reactivarse.

El diagnóstico de la varicela y el herpes zóster es casi siempre clínico⁽⁷⁾. Sin embargo, la confirmación por el laboratorio está indicada en los casos de localización atípica y cuando se pretende instaurar un tratamiento o profilaxis. El método de elección es el aislamiento del virus en cultivos celulares a partir del líquido vesicular de lesiones recientes. No obstante, la identificación definitiva se realiza por medio de antisueros específicos marcados con fluoresceína⁽⁷⁾. Esta técnica ha demostrado ser tanto o más sensible que el aislamiento viral.

VIRUS HERPES HUMANO 4 (EPSTEIN-BARR)

Su infección es muy frecuente y casi siempre asintomática. En nuestro medio el 80% de la población adulta presenta anticuerpos frente a este virus⁽⁷⁾.

El cuadro más representativo de la infección por VEB es la mononucleosis infecciosa, proceso benigno que se caracteriza por: fiebre y astenia prolongada, faringitis, adenopatías múltiples, hepatitis moderada, esplenomegalia y predominio de mononucleares en la fórmula sanguínea.

El diagnóstico de la mononucleosis es fundamentalmente serológico⁽⁷⁾:

- Detección de anticuerpos frente a antígenos de la cápside viral, sobre todo IgM.
- Demostración de anticuerpos heterófilos, que son anticuerpos existentes en el suero de los enfermos de mononucleosis, capaces de aglutinar los hemáties de carnero (pruebas de Paul-Bunnell o de Lee-Davidson).

VIRUS HERPES HUMANO 5 (CITOMEGALOVIRUS)

El citomegalovirus es uno de los virus que más frecuentemente infecta a seres humanos; hasta el 80% de la población posee anticuerpos frente al citomegalovirus⁽⁷⁾.

La mayoría de infecciones son asintomáticas. En personas inmucompetentes puede causar síndrome febril autolimitado, mononucleosis infecciosa, o en ocasiones hepatitis postransfusional. Su importancia radica, fundamentalmente, en ser el virus que más se implica en infecciones congénitas y en infecciones graves en enfermos inmunocomprometidos (trasplantados, enfermos hematológicos, sida). En general el diagnóstico microbiológico consiste en la determinación de antígenos específicos en células muestra o en cultivos, o la detección de IgM específica⁽⁷⁾.

DISCUSIÓN

Como ya se ha mencionado antes, las técnicas inmunohistoquímicas son técnicas de laboratorio que se utilizan hoy en día extensamente para detectar y cuantificar anticuerpos que el organismo crea contra sí mismo, en algunas enfermedades de naturaleza autoin-

Tabla 3 Rendimiento de la inmunofluorescencia directa en el diagnóstico de procesos de la mucosa bucal⁽⁵⁾

Pénfigo

Sensibilidad 91%
Especificidad 99%

Penfigoide

Sensibilidad 75%
Especificidad 98%

Liquen plano

Sensibilidad 48%
Especificidad 97%

mune, así como para el diagnóstico de enfermedades de origen bacteriano, micótico, parasitario y viral.

Algunas de estas técnicas son de gran utilidad en odontoestomatología⁽⁷⁾, pero es importante que recordemos que los resultados se deben interpretar siempre en conjunto con la clínica (anamnesis y exploración clínica) y los hallazgos microscópicos.

La prueba diagnóstica ideal es aquella con una alta sensibilidad y alta especificidad, en el caso de la inmunofluorescencia, la técnica directa es simple y rápida de realizar, pero es menos sensible, y la técnica indirecta es más sensible, produce una fluorescencia más brillante, pero tiene menos especificidad; sin embargo con el uso de técnicas microscópicas avanzadas y fluorocromos modificados ha aumentado la especificidad y sensibilidad de la inmunofluorescencia (Tabla 3).

En relación a las muestras para inmunofluorescencia, debe recordarse que estas deben remitirse al laboratorio en el menor tiempo posible, ya que tienen una vida muy corta; así se evitará una alteración proteica y por consiguiente un diagnóstico equivocado. Las muestras de tejido para estudio de inmunofluorescencia directa se sumergirán en suero fisiológico durante su transporte y almacenamiento, para conservar la integridad de los tejidos, antes de su análisis⁽³⁾.

BIBLIOGRAFÍA

1. Rojas-Espinoza O. *Inmunología de memoria*. 2ª ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana. 2001.
2. Pumarola A, Rodríguez A, García JA, Piedrola G. *Microbiología y Parasitología Médica*. 2ª ed. Barcelona: Salvat 1987:258-271.
3. Stites DP, Terr AI, Parslow TG. *Medical immunology*. 9ª ed. U.S.A.: Appleton & Lange. 1997:211-253.
4. Roitt I, Brostoff J, Male D. *Inmunología*. 5ª ed. Madrid: Harcourt. 2000:383-395.
5. Ferre J. Pruebas Inmunológicas. En: Chimenos E. *La historia clínica en odontología*. Barcelona: Masson, 1999:171-186.
6. Benacerraf B, Unane E. *Inmunología*. 2ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana 1986:50-69.
7. Liébana Ureña J. *Microbiología oral*. 2ª ed. McGraw-Hill Interamericana. Madrid: Epigrafos 2002:191-200.
8. Koneman EW, Allen SD, Dowell VR, Janda WM, Sommers HM, Washington C, Winn. *Diagnóstico microbiológico*. 3ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana 1992:857-879.
9. Roitt I. *Inmunología. Fundamentos*. 7ª ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana 1995:88-105.
10. Scully C, Carrozzo M, Gandolfo S, Puiatti P, Monteil R. Update on mucous membrane pemphigoid. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1999;**88**:56-68.
11. Musa NJ, Kumar V, Humphreys, Aguirre A, Neiders ME. Oral pemphigoid masquerading as necrotizing ulcerative gingivitis in a child. *J Periodontology* 2002;**73**:657-663.
12. Dayan S, Simmons RK, Ahmed RA. Contemporary issues in the diagnosis of oral pemphigoid. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1999;**88**:424-30.
13. Korman NJ, Goldstein SM, Wintroub BU. Enfermedades dermatológicas mediadas inmunitariamente. En: Stites DP, Parslow TG, Terr A. *Inmunología básica y clínica*. México: Manual Moderno 1998:679-695.
14. Kurihara M, Nishimura F, Hashimoto T, Komai A, Ueda H. Immunopathological diagnosis of cicatricial pemphigoid with desquamative gingivitis. A case report. *J Periodontol* 2001;**72**:243-249.
15. Bengel W, Veltman G, Loely HT, Taschini P. *Differential diagnosis of diseases of the oral mucosa*. Chicago: Quintessence; 1989.
16. Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, Ginsberg HS. *Tratado de inmunología*. Barcelona: Masson; 1996.
17. Bozkurt FY, Celenligit H, Sungur A, Ruacan S. Gingival involvement in mucous membrane pemphigoid. *Quintessence Int* 1998;**29**:438.
18. Terezhalmay GT, Bergfeld FW. Cicatricial pemphigoid. *Quintessence International* 1998;**29**:429-437.
19. Urquía M, Ceballos A. *Técnicas diagnósticas en medicina oral. El manual de odontología*. Masson. Barcelona: 2002.